

## 基于“辨色论质”理论的箭叶淫羊藿叶片色泽与有效成分含量关系研究

张高阳<sup>1,2</sup>, 张岩岩<sup>1,2</sup>, 周省委<sup>1,2</sup>, 初雷霞<sup>1,2</sup>, 陈璐<sup>1,2</sup>, 侯文川<sup>1,2</sup>, 董宁<sup>1</sup>, 张飞宇<sup>3</sup>, 董诚明<sup>1,2</sup>, 杨林林<sup>1,2\*</sup>

1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046

2. 河南省地道药材生态种植工程技术研究中心, 河南 郑州 450046

3. 河南中医药大学中医药科学院, 河南 郑州 450046

**摘要:** 目的 基于“辨色论质”理论对箭叶淫羊藿 *Epimedium sagittatum* 叶片色泽与其淫羊藿苷类有效成分进行关联分析, 为箭叶淫羊藿“辨色论质”质量评价体系的建立提供理论参考。方法 使用色差法测定 103 批箭叶淫羊藿叶片表观色泽指标(明度值  $L^*$ 、红绿度值  $a^*$ 、黄蓝度值  $b^*$ 、总色差  $E^*$ )；HPLC 法测定叶片中朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I 含量；紫外分光光度法测定叶片中总黄酮含量；运用 SPSS 软件进行差异分析、K-聚类分析、相关性分析、回归分析。结果 103 批箭叶淫羊藿叶片  $L^*$  为 33.38~48.22、 $a^*$  为 -7.56~-3.50、 $b^*$  为 9.17~28.68、 $E^*$  为 36.82~56.38, 可见其表观色泽有显著差异；其有效成分定量分析显示, 淫羊藿叶片中朝藿定 A 质量分数为 0.28~3.55 mg/g、朝藿定 B 为 0.20~3.60 mg/g、朝藿定 C 为 11.10~124.51 mg/g、淫羊藿苷为 0.28~30.55 mg/g、宝藿苷 I 为 0.28~7.32 mg/g、总黄酮为 26.72~169.12 mg/g；经 K-聚类分析将箭叶淫羊藿叶片分为 I~V 类, 其中第 III 类叶片整体色差均一, 呈现亮黄绿色稀黄色斑点, 有效成分含量相较于其他 4 类处于最高水平；经相关性分析表明总黄酮和其他 5 种有效成分含量与  $L^*$ 、 $b^*$ 、 $E^*$  呈显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 与  $a^*$  呈显著负相关 ( $P < 0.05$ )；经回归分析得淫羊藿苷与色泽指标的回归方程为  $Y = 0.009\ 269 + 0.000\ 236L^* + 0.000\ 881a^* + 0.000\ 214b^*$ 。结论 箭叶淫羊藿叶片色泽与有效成分含量高度关联, 可为箭叶淫羊藿叶片有效成分含量快速预测及“辨色论质”评价体系的构建提供参考依据。

**关键词:** 箭叶淫羊藿；辨色论质；朝藿定 A；朝藿定 B；朝藿定 C；淫羊藿苷；宝藿苷 I；色泽指标；含量预测

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)05-1764-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.05.024

## Relationship research between leaves color and active component content of *Epimedium sagittatum* based on theory of “quality discrimination by color characteristic”

ZHANG Gaoyang<sup>1,2</sup>, ZHANG Yanyan<sup>1,2</sup>, ZHOU Shengwei<sup>1,2</sup>, CHU Leixia<sup>1,2</sup>, CHEN Lu<sup>1,2</sup>, HOU Wenchuan<sup>1,2</sup>, DONG Ning<sup>1</sup>, ZHANG Feiyu<sup>3</sup>, DONG Chengming<sup>1,2</sup>, YANG Linlin<sup>1,2</sup>

1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. Henan Provincial Ecological Planting Engineering Technology Research Center of Authentic Medicinal Materials, Zhengzhou 450046, China

3. Henan University of Chinese Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Zhengzhou 450046, China

**Abstract: Objective** Based on the theory of “quality discrimination by color characteristic”, the correlation between the leaves color and the effective components of icariin was analyzed in order to provide theoretical reference for the establishment of the quality evaluation system of “quality discrimination by color characteristic” of *Epimedium sagittatum*. **Methods** The apparent color indexes (brightness value  $L^*$ , redness value  $a^*$ , yellowness chromaticity value  $b^*$ , and total color difference  $E^*$ ) of 103 batches of *E. sagittatum* leaves were determined by the color difference method. The contents of epimedin A, epimedin B,

收稿日期: 2024-10-01

基金项目: 中国博士后科学基金特别资助项目 (2014T170252); 国家自然科学基金资助项目 (82104329, 32401226); 河南省重点研发专项 (231111312700, 241111310200); 河南省国际科技合作项目 (242102521056); 河南省科技攻关项目 (242102310549)

作者简介: 张高阳 (2000—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药资源生态学。E-mail: zhanggy0511@126.com

\*通信作者: 杨林林 (1992—), 男, 副教授, 硕士生导师, 博士, 研究方向为药用植物栽培生理与生态学。

E-mail: yangll-hatcm@hactcm.edu.cn

epimedin C, icariin and baohuoside I were determined by HPLC and the total flavonoid contents were determined by UV spectrophotometry in the leaves. Analysis of variance, K-cluster analysis, correlation analysis, and regression analysis were performed by SPSS software. **Results** The apparent color indexes of  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  and  $E^*$  of 103 batches of *E. sagittatum* leaves were in the range of 33.38—48.22, -7.56—-3.50, 9.17—28.68, and 36.82—56.38, respectively, which showed that there was a significant difference in their apparent coloration; Quantitative analysis of the effective components showed that the content of epimedin A, epimedin B, epimedin C, icariin, baohuoside I, total flavonoids in the leaves of *E. sagittatum* was in the range of 0.28—3.55 mg/g, 0.20—3.60 mg/g, 11.10—124.51 mg/g, ranging from 0.28—30.55 mg/g, 0.28—7.32 mg/g, and ranged from 26.72—169.12 mg/g, respectively. After K-cluster analysis, the leaves of *E. sagittatum* were divided into I—V types, in which the leaves of the III type were of uniform color, showing bright yellow-green and diluted yellow spots, and the content of active ingredients was at the highest level compared with the other four types. The correlation analysis showed that the total flavonoids and the other five active ingredients were positively correlated with  $L^*$ ,  $b^*$ , and  $E^*$  ( $P < 0.05$ ), and were negatively correlated with  $a^*$  ( $P < 0.05$ ); According to the regression analysis, the regression equation between icariin and color index was  $Y = 0.009269 + 0.000236L^* + 0.000881a^* + 0.000214b^*$ . **Conclusion** The results of this study show that the color of the leaves of *E. sagittatum* is highly correlated with the content of active ingredients, which can provide a reference basis for the rapid prediction of the content of active ingredients in the leaves of *E. sagittatum* and the construction of the evaluation system of “quality discrimination by color characteristic”.

**Key words:** *Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.; quality discrimination by color characteristic; epimedin A; epimedin B; epimedin C; icariin; baohuoside I; color indicator; content prediction

箭叶淫羊藿 *Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim. 为小檗科多年生草本植物，以干燥叶入药<sup>[1]</sup>，为传统补益药材，其药用历史悠久，在《神农本草经》中列为中品，具有补肾阳、强筋骨、祛风湿<sup>[2]</sup>功效。临床上用于治疗骨质疏松、高血压、冠心病等疾病，药理研究表明其在抗炎<sup>[3]</sup>、抗衰老<sup>[4]</sup>、抑制肿瘤<sup>[5]</sup>等方面也具有很好的功效。朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I 等黄酮类成分为箭叶淫羊藿主要活性成分<sup>[6]</sup>。在实际生产中，同一产地、同一居群、同一生长时期的箭叶淫羊藿叶片色泽性状表现出显著差异，可能是其有效成分含量发生波动、药材质量不均一的外在体现。

对于中药品种传统经验鉴别，谢宗万<sup>[7]</sup>先生提出“辨状论质”的概念，他指出“辨状论质”是根据中药材的表现呈现状态，包括中药材的形状、颜色、气味、味道等，利用看、摸、闻、尝等方法来判断药材的真伪优劣，从而阐明其质量的本质。颜色是中药辨色论质的重要组成部分<sup>[8]</sup>，是鉴别中药材真伪及品质优劣的重要标志之一。“色变则味变，味变则质变”，颜色的差异在一定程度上可以反映出中药材内源物质的变化<sup>[9]</sup>。“辨色论质”，即通过中药材的表现色泽鉴别其有效成分的物理特性。现代研究表明，中药的色泽与其药性和有效成分含量、药效强弱关系密切<sup>[10]</sup>。马婷婷等<sup>[11]</sup>研究得出甘草根皮和断面的色差均与有效成分含量具有显著或极显著相关性；宿莹等<sup>[12]</sup>研究得出龙胆外观色差与有

效成分龙胆苦苷含量有关；刘战等<sup>[13]</sup>通过使用色差仪测量赤芍的色度，将外观色差数据化，结合指纹图谱信息可快速预测赤芍成分含量。在“辨状论质”的理论基础上，相关学者进一步提出中药材的表现色泽鉴别其有效成分关联的“辨色论质”理论。颜色的三要素为色调、明度、色饱和度，三者构成成色空间。但是仅通过观察者的视觉判断，主观性较强，存在较大的误差。色差法是一种将色差转换成数字，进而对其量化分析的方法<sup>[14]</sup>。色差法利用 CIE 色度空间系统  $L^*$ 、 $a^*$  和  $b^*$  ( $L^*$  为明度， $a^*$  为红绿色度， $b^*$  为黄蓝色度)<sup>[15]</sup> 对中药材样品色泽进行分析。其中  $L^*$  值越大表示色差越亮/浅， $a^*$  值越大表示色差越偏红， $b^*$  值越大表示色差越偏黄。目前，利用色差分析与中药材质量测定相结合进而快速鉴定中药材质量得到了有效应用，前人研究指出箭叶淫羊藿的外在指标与内在指标具有正相关性<sup>[16]</sup>，但对两者并未过多分析。

本研究以“辨色论质”理论为指导，探索箭叶淫羊藿叶片色泽指标与有效成分之间的相关关系，以河南省平舆县采集的 103 批箭叶淫羊藿叶片为材料，采用色差法测定其表现色泽指标 ( $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ )，HPLC 法测定其朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I 5 种有效成分的含量，紫外分光光度法测定其总黄酮含量，对色差和有效成分含量结果进行差异分析、K-聚类分析、相关性分析、回归分析，为箭叶淫羊藿有效成分

快速预测及“辨色论质”评价体系的构建提供参考依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 仪器

Thermo U3000 型高效液相色谱仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]、A590 型双光束紫外可见分光光度计[翰艺仪器(上海)有限公司]、JP-040S 型数控超声波清洗机(广东洁盟生活电器有限公司)、MS105DU 型万分之一天平(瑞士梅特勒-托利多集团)。

### 1.2 试剂

朝藿定 A (批号 J12HB184811)、朝藿定 B (批号 G19A11L121806)、朝藿定 C (批号

N18GB166250)、淫羊藿苷(批号 T11A11B11111)、宝藿苷 I (批号 A20GB158231), 均购于源叶生物科技有限公司(质量分数均 $\geq 98\%$ ); 色谱乙腈(批号 213447)、色谱甲醇(批号 20210504)均购于 Fisher Scientific 公司。

### 1.3 材料

103 批箭叶淫羊藿样品(S1~S103)均采集自河南省平舆县箭叶淫羊藿规范化种植基地, 经河南中医药大学药学院董诚明教授鉴定为小檗科植物箭叶淫羊藿 *E. sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.。将采集后的箭叶淫羊藿样品进行快速压制干燥以保持色泽用于色差及其有效成分含量的测定。103 批箭叶淫羊藿部分叶片样品性状如图 1 所示。

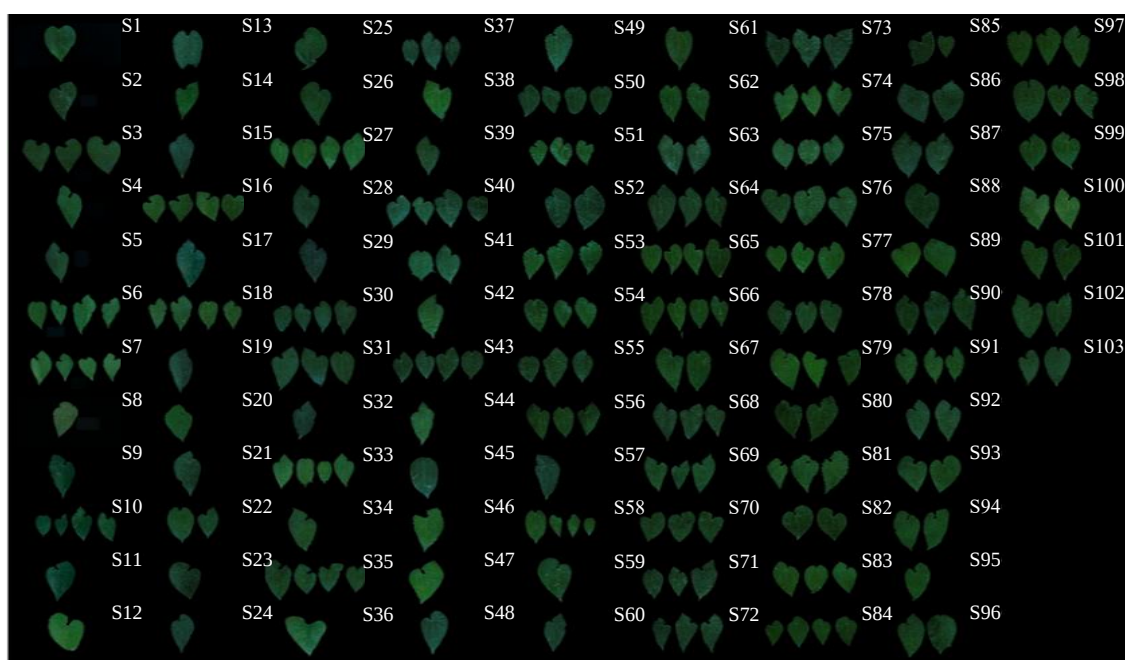


图 1 箭叶淫羊藿叶片样品

Fig. 1 Leaf samples of *E. sagittatum*

## 2 方法

### 2.1 箭叶淫羊藿叶片色差值测定

从 103 批样品每批选择具有代表意义的 3 片干燥叶片, 使用 X-Rite 色差仪对叶片上、中、下 3 个部分的色泽进行测量, 每个部分测得色差数据作为重复, 求各重复间平均值, 并通过计算得到  $E$  值<sup>[17]</sup>来描述色差整体呈现( $E$  值表示总体的色差值, 是对色差的整体体现), 按  $E^* = (L^{*2} + a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  计算总色差。测定条件: 测定孔径为 8 mm; 光源为 LED 蓝光激发。对仪器进行黑白板校正以后, 进行

样品测定。

**2.1.1 精密度试验** 取箭叶淫羊藿样品, 按照色度测定条件进行样品色差测定, 连续测定 6 次, 记录  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  值, 结果 RSD 均 $<1.5\%$ , 表明仪器精密度良好。

**2.1.2 重复性试验** 取箭叶淫羊藿样品 6 份, 按照色度测定条件进行色差测定, 记录  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  值, 结果 RSD 均 $<2\%$ , 表明方法重复性良好。

**2.1.3 稳定性试验** 取箭叶淫羊藿样品, 分别于 0、1、2、3、4、5、6 h 进行样品色差测定, 记录  $L^*$ 、

$a^*$ 、 $b^*$ 值,结果 RSD 均 $<2\%$ ,表明样品在 6 h 内稳定性良好。

## 2.2 箭叶淫羊藿叶片中有效成分含量测定

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱为 ZORBAX SB-C<sub>18</sub> (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m); 流动相为乙腈 (A)-0.1% 甲酸水 (B) 溶液; 梯度洗脱: 0~4 min, 74% B; 4~7 min, 74%~73% B; 7~8 min, 73%~72% B; 8~11 min, 72%~70% B; 11~13 min, 70%~60% B; 13~16 min, 60%~52% B; 16~17 min, 52% B; 17~25 min, 52%~74% B; 25~30 min, 74% B; 进样体积 5  $\mu$ L; 检测波长 270 nm; 体积流量 1 mL/min; 柱温 35  $^{\circ}$ C。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 选取经色差仪测量后的 103 批箭叶淫羊藿叶片,采用 50%乙醇作为提取液,料液比 1:25,超声提取(功率 400 W,频率 50 kHz),提取时间 40 min,滤过,取续滤液即得。

**2.2.3 对照品溶液的制备** 以甲醇为溶剂,取朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I 对照品适量,精密称定,加甲醇制备成质量浓度为 144  $\mu$ g/mL 朝藿定 A、140  $\mu$ g/mL 朝藿定 B、2 860  $\mu$ g/mL 朝藿定 C、2 050  $\mu$ g/mL 淫羊藿苷、552  $\mu$ g/mL 宝藿苷 I 的混合对照品储备溶液。

**2.2.4 标准曲线的建立** 将对照品储备液分别用甲醇溶解,制备成朝藿定 A 质量浓度为 14.4、28.8、57.6、115.2、144  $\mu$ g/mL; 朝藿定 B 质量浓度为 14、28、56、112、140  $\mu$ g/mL; 朝藿定 C 质量浓度为 178.75、357.5、715、1 430、2 860  $\mu$ g/mL; 淫羊藿苷质量浓度为 102.5、256.25、512.5、1 025、2 050  $\mu$ g/mL; 宝藿苷 I 质量浓度为 27.6、55.2、138、276、552  $\mu$ g/mL; 精密吸取各对照储备液及稀释液各 5  $\mu$ L 注入液相色谱仪,以各对照品质量浓度为横坐标 (X),峰面积为纵坐标 (Y),绘制标准曲线,得出线性回归方程,见表 1。

**2.2.5 精密度考察** 称取箭叶淫羊藿样品 (S1) 制备成供试品溶液,连续进样 6 次,记录相对保留时

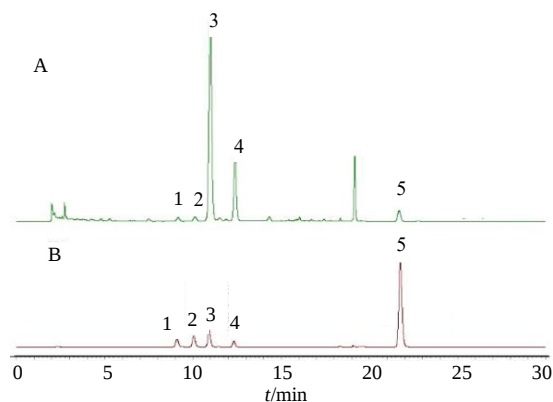
间和相对峰面积 RSD 值,结果表明 5 个共有峰的相对保留时间 RSD 为 0.05%~0.16%,相对峰面积 RSD 为 0.34%~2.94%。

**2.2.6 重复性考察** 平行称取 6 份箭叶淫羊藿样品,分别制备成供试品溶液,在“2.2.1”项下进行测定,计算相对保留时间和质量分数的 RSD 值,结果表明 5 个共有峰的相对保留时间 RSD 为 0.03%~0.14%,质量分数 RSD 为 0.90%~3.40%。

**2.2.7 稳定性考察** 称取箭叶淫羊藿样品 (S1) 制备成供试品溶液,在色谱条件下每隔 6 小时测定 1 次,共测定 4 次,计算 5 个特征共有峰保留时间。结果表明,5 个特征共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.15%~0.79%,相对峰面积 RSD 为 1.66%~4.99%。

**2.2.8 加样回收率试验** 精密称取已测定含量的 6 份箭叶淫羊藿叶片样品,每份约 0.4 g,精密称定后,按照与朝藿定 A、朝藿定 B、淫羊藿苷和宝藿苷 I 组分含量 1:1 加入混合对照储备液,按照与朝藿定 C 组分含量 1:2 加入混合对照储备液(因朝藿定 C 含量过高,所以比例减半);按照“2.2.1”项色谱条件项下测定,并根据线性回归方程计算各成分含量。结果朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷和宝藿苷 I 的加样回收率分别在 94.55%~100.87%,RSD 分别在 2.6%~4.7%。

**2.2.9 样品的测定** 取各样品按照“2.2.2”项制备供试品溶液,根据“2.2.1”项色谱条件进样测定。箭叶淫羊藿样品与混合对照品 HPLC 图谱如图 2 所示。



1-朝藿定 A; 2-朝藿定 B; 3-朝藿定 C; 4-淫羊藿苷; 5-宝藿苷 I。  
1-epimedin A; 2-epimedin B; 3-epimedin C; 4-icariin; 5-baohuoside I.

图 2 箭叶淫羊藿样品 (A) 与混合对照品 (B) HPLC 图谱  
Fig. 2 HPLC of *E. sagittatum* samples (A) and mixed reference substances (B)

表 1 标准曲线方程

Table 1 Standard curve of standardized products

| 成分    | 回归方程                     | $R^2$ | 线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ |
|-------|--------------------------|-------|------------------------------------------|
| 朝藿定 A | $Y=0.115\ 9\ X-0.062\ 8$ | 0.999 | 14.40~144.00                             |
| 朝藿定 B | $Y=0.149\ 8\ X-0.134\ 3$ | 1.000 | 14.00~140.00                             |
| 朝藿定 C | $Y=0.133\ 4\ X-1.690\ 2$ | 1.000 | 178.75~2 860.00                          |
| 淫羊藿苷  | $Y=0.167\ 8\ X-1.259\ 3$ | 1.000 | 102.50~2 050.00                          |
| 宝藿苷 I | $Y=0.211\ 2\ X+2.151\ 7$ | 0.999 | 27.60~552.00                             |

## 2.3 数据分析与统计

运用 SPSS 2021 软件对数据进行差异分析、K-聚类分析、回归分析, 运用联川生物云平台 (<https://www.omicstudio.cn>)、Graphpad Prism 10.1 软件进行作图汇总。

## 3 结果与分析

### 3.1 不同批次箭叶淫羊藿叶片表观色泽差异分析

通过观察发现箭叶淫羊藿 103 批样品中具有较大的颜色差异, 如图 3 所示, 色差值  $a^*$  变化范围是  $-7.56 \sim -3.50$ , 变异系数为 16.91%; 色差值  $b^*$  变化范围是  $9.17 \sim 28.68$ , 变异系数为 26.64%; 色差值  $L^*$  变化范围是  $33.38 \sim 48.22$ , 变异系数为 7.98%; 色差值  $E^*$  变化范围是  $36.82 \sim 56.38$ , 变异系数为 9.84%。测定结果中色差值  $b^*$  变化幅度最大, 色差值  $L^*$  变化幅度最小。

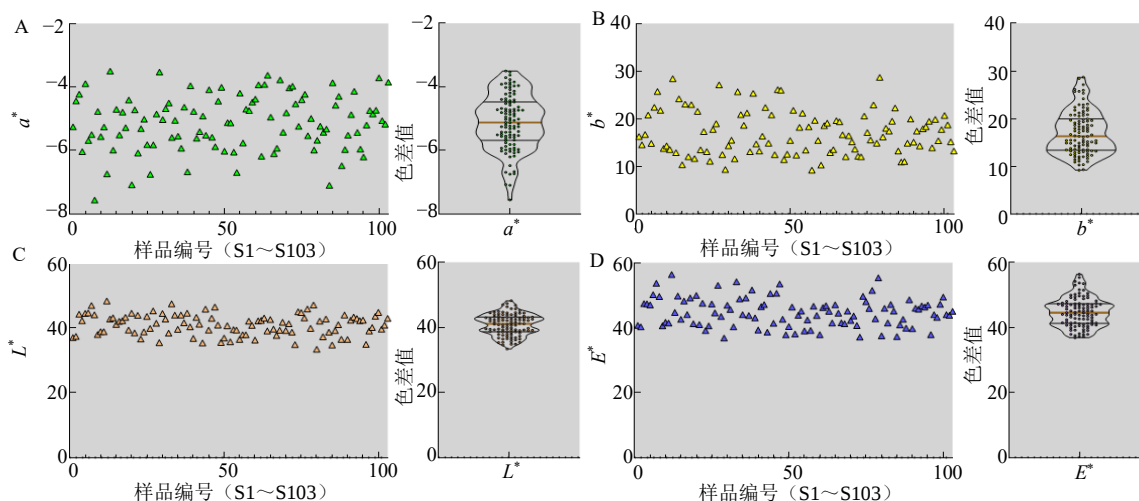
### 3.2 不同批次箭叶淫羊藿叶片有效成分含量差异分析

不同箭叶淫羊藿叶片有效成分含量之间存在较大差异, 如图 4 所示, 朝藿定 A 为  $0.28 \sim 3.55$  mg/g, 变异系数为 50.64%; 朝藿定 B 为  $0.20 \sim 3.60$  mg/g, 变异系数为 58.77%; 朝藿定 C 为  $11.10 \sim 125.51$  mg/g, 变异系数为 43.05%; 淫羊藿苷质量分数为  $0.28 \sim 30.55$  mg/g, 变异系数为 54.23%; 宝藿苷 I 质量分数为  $0.28 \sim 7.32$  mg/g, 变异系数为 63.28%; 总黄酮质量分数为  $26.72 \sim 169.12$  mg/g, 变异系数为 30.36%; 103 批箭叶淫羊藿样品中朝藿

定 B、淫羊藿苷、宝藿苷 I 含量变异系数均在 50% 以上, 各有效成分含量变异系数均在 30% 以上, 下步对其进行 K-聚类分析。

### 3.3 箭叶淫羊藿叶片表观色泽与有效成分含量的 K-聚类分析

将 103 批箭叶淫羊藿叶片样品进行 K-聚类分析, 分成 5 个类别并记录 5 个类别中叶片的外观特征, 见表 2。对 5 个类别箭叶淫羊藿叶片色差值和有效成分含量平均值进行排名, 结果表明 5 个类别间性状差异明显, 第 I 类别的  $L^*$ 、 $b^*$ 、 $E^*$  值处在第 5 位,  $a^*$  值处于第 2 位, 有效成分含量均在第 5 位, 叶片整体无光泽, 表面具有密集黄色斑点, 叶片呈灰暗黄绿色底, 可见黄色斑点, 第 I 类别中样品的色差指标  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $E^*$  的平均值为 37.12、-4.80、13.23、39.75, 朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮质量分数平均值为 0.96、0.83、45.33、8.89、1.43、83.93 mg/g; 第 II 类别中  $L^*$ 、 $a^*$  处于第 4 位,  $b^*$ 、 $E^*$  值处于第 3 位, 朝藿定 A 质量分数处于第 4 位, 朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷含量处于第 2 位, 宝藿苷 I、总黄酮含量处于第 3 位, 叶片多数具有黄色斑点, 呈现暗绿色底仍见有黄色斑点, 第 II 类别中样品的色差指标  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $E^*$  的平均值为 40.53、-5.60、19.17、45.22, 朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮质量分数平均值为 1.06、1.00、66.57、15.68、1.80、110.54 mg/g; 第 III 类别的  $L^*$ 、 $b^*$ 、 $E^*$  值处在

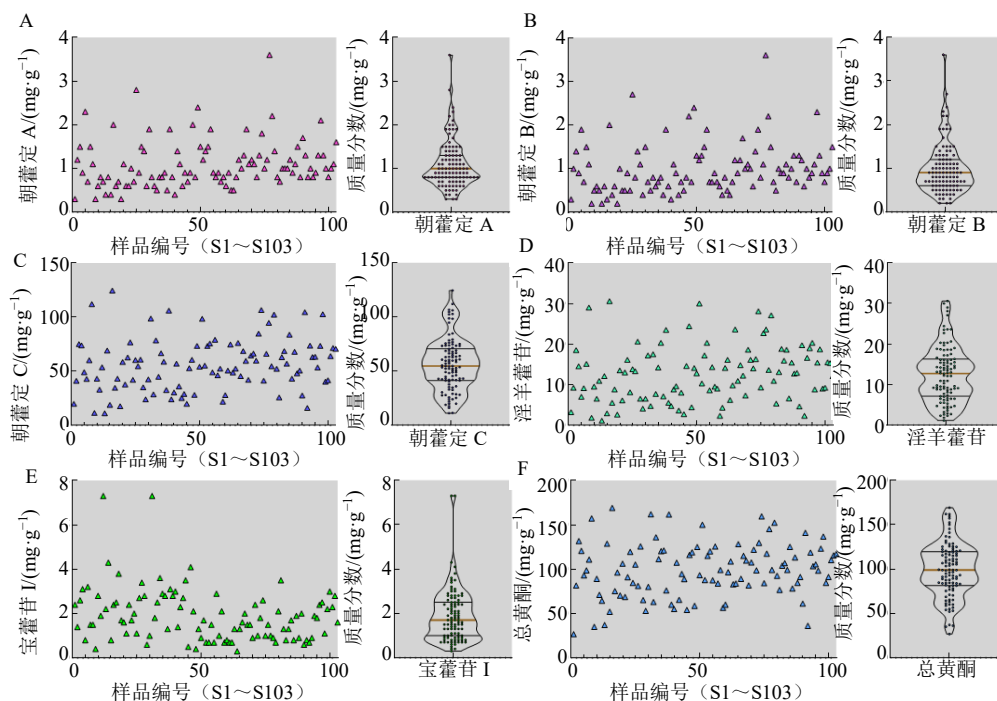


A-不同样品色差值  $a^*$  的分布范围; B-不同样品色差值  $b^*$  的分布范围; C-不同样品色差值  $L^*$  的分布范围; D-不同样品色差值  $E^*$  的分布范围。

A-distribution range of color difference values  $a^*$  for different samples; B-distribution range of color difference values  $b^*$  for different samples; C-distribution range of color difference values  $L^*$  for different samples; D-distribution range of color difference values  $E^*$  for different samples.

图 3 样品色差值  $a^*$ 、 $b^*$ 、 $L^*$  及总色差值  $E^*$  分布范围

Fig. 3 Distribution range of sample color difference values  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $L^*$  and total color difference value  $E^*$



A-不同样品朝藿定 A 含量的分布范围；B-不同样品朝藿定 B 含量的分布范围；C-不同样品朝藿定 C 含量的分布范围；D-不同样品淫羊藿苷含量的分布范围；E-不同样品宝藿苷 I 含量的分布范围；F-不同样品总黄酮含量的分布范围。

A-distribution range of epimedin A of different samples; B-distribution range of epimedin B of different samples; C-distribution range of epimedin C of different samples; D-distribution range of icaritin of different samples; E-distribution range of baohuoside I of different samples; F-distribution range of total flavonoids of different samples.

图 4 箭叶淫羊藿各有效成分含量分布范围

Fig. 4 Distribution range of the contents of each active ingredient in *E. sagittatum*

表 2 K-聚类分析结果

Table 2 Results of K-cluster analysis

| 类别  | 样品编号                                                                                                                         | 叶片色泽性状及其成分特征                                        |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| I   | S1、S2、S9、S10、S11、S19、S21、S23、S24、S29、S32、S40、S43、S45、S49、S50、S52、S55、S57、S60、S64、S67、S68、S72、S73、S80、S82、S85、S86、S88、S90、S96 | 叶片整体无光泽，肉眼可见绿色叶片表面呈现灰白色，表面具有密集黄色斑点，叶片呈灰暗黄绿色底，可见黄色斑点 |
| II  | S26、S35、S51、S53、S54、S56、S58、S61、S62、S66、S81、S84、S91、S93、S94、S97、S101                                                         | 第 II 类叶片整体光泽度较第 I 类有提升，但大多表面仍具有黄色斑点，叶片呈现暗绿色底仍见有黄色斑点 |
| III | S7、S12、S27、S33、S38、S46、S47、S77、S79                                                                                           | 叶片整体色差均一，呈现亮黄绿色稀黄色斑点。有效成分含量相较于其他 4 类处于最高水平          |
| IV  | S3、S4、S6、S8、S14、S16、S18、S20、S22、S25、S34、S36、S42、S44、S65、S74、S75、S83、S89、S95、S99、S100                                         | 多数叶片表面具有密集黄色斑点，叶片色差偏亮黄绿色底但见黄色斑点                     |
| V   | S5、S13、S15、S17、S28、S30、S31、S37、S39、S41、S48、S59、S63、S69、S70、S71、S76、S78、S87、S92、S98、S102、S103                                 | 叶片整体光泽度较暗，大多表面具有明显黄色斑点（少见白色），叶片色差为深绿色底但见黄或白斑点       |

第 1 位， $a^*$ 值处于第 5 位，有效成分的质量分数均位于第 1 位，叶片性状无明显密集黄白色斑点，呈现亮黄绿色稀黄色斑点，第 III 类别中样品的色差指

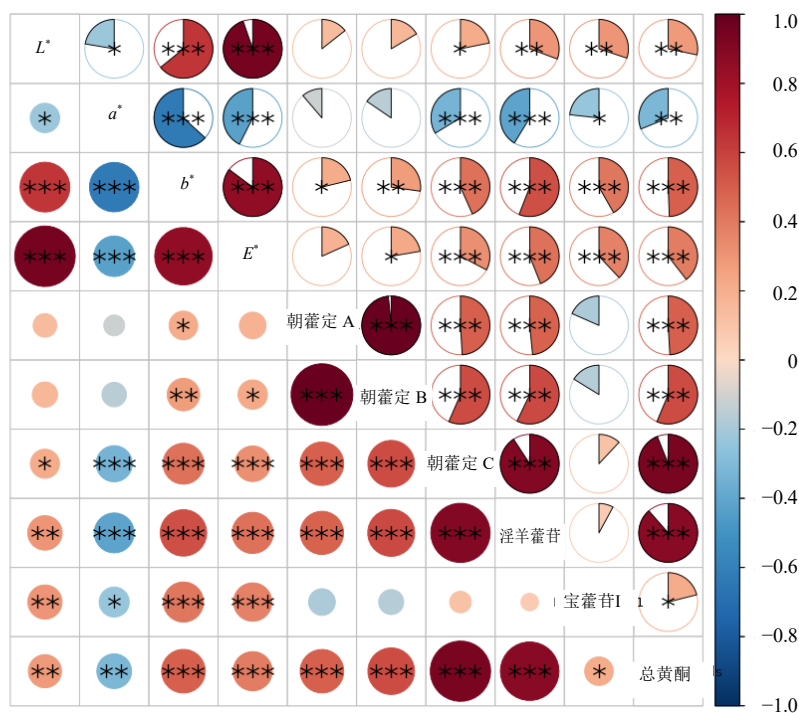
标  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $E^*$ 的平均值为 46.01、-5.92、26.22、53.31，朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮质量分数平均值为 1.54、1.57、

74.4、19.69、2.85、125.84 mg/g; 第IV类别中  $L^*$ 、 $b^*$ 、 $E^*$  值处于第 2 位,  $a^*$  处于第 3 位, 朝藿定 A、朝藿定 B 与宝藿苷 I 质量分数处于第 2 位, 朝藿定 C、淫羊藿苷与总黄酮含量处于第 3 位, 样品中多数叶片表面具有密集黄色斑点, 叶片色差偏亮黄绿色底但见黄色斑点。第IV类别中样品的色差指标  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $E^*$  的平均值为 43.59、-5.53、20.36、48.48, 朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮量平均值为 1.11、1.00、62.62、15.44、2.40、111.06 mg/g; 第V类别中  $L^*$  值处于第 3 位,  $a^*$  处于第 1 位,  $b^*$ 、 $E^*$  值处于第 4 位, 朝藿定 A、朝藿定 B 质量分数处于第 3 位, 朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮含量处于第 4 位, 叶片整体光泽度较暗, 大多表面具有明显黄色斑点 (少见白色), 叶片色差为深绿色底但见黄或白斑点, 第 V 类别中样品的色差指标  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $E^*$  的平均值为 41.78、-4.53、13.93、44.31, 朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮质量分数平均值为 1.10、0.94、48.82、9.70、1.77、89.26 mg/g。其中第III类别有效成分质量分数均在第 1 位, 叶片性状无明显密集黄白色斑点, 呈现亮黄绿色稀黄色斑点, 样品性状最优; 第 I 类别有效成分含量均

在第 5 位, 叶片整体无光泽, 表面具有密集黄色斑点, 叶片呈灰暗黄绿色底, 可见黄色斑点, 样品性状最次。K-聚类分析结果表明箭叶淫羊藿色差与有效成分含量之间存在相关性。

### 3.4 箭叶淫羊藿叶片表现色泽与有效成分含量的相关性分析

将箭叶淫羊藿叶片表现色泽与有效成分含量指标进行相关性分析, 如图 5 所示, 可以看出  $L^*$  与朝藿定 C 呈显著正相关 ( $P<0.05$ ), 与淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮呈极显著正相关 ( $P<0.01$ );  $a^*$  与朝藿定 C、淫羊藿苷呈极显著负相关 ( $P<0.001$ ), 与总黄酮呈极显著负相关 ( $P<0.01$ ), 与宝藿苷 I 呈显著负相关 ( $P<0.05$ );  $b^*$  与朝藿定 A 呈显著正相关 ( $P<0.05$ ), 与朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮呈极显著正相关 ( $P<0.001$ );  $E^*$  与朝藿定 B 呈显著正相关 ( $P<0.05$ ), 与朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮呈极显著正相关 ( $P<0.001$ )。相关性分析结果表明样品中明度值  $L^*$  越高, 朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮含量越高; 红绿度值  $a^*$  越绿, 朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮含量越高; 叶片的色差黄蓝度值  $b^*$  越黄, 朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮含量越高。



\* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$  \*\*\* $P<0.001$ 。

图 5 箭叶淫羊藿表现色泽与有效成分含量的相关性分析

Fig. 5 Correlation analysis between color difference values and active ingredient contents of *E. sagittatum*

### 3.5 箭叶淫羊藿叶片表观色泽与有效成分含量的回归分析

以色差指标值  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  为自变量, 箭叶淫羊藿中朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I 以及总黄酮的含量为因变量, 利用 SPSS 软件进行回归分析结果如下表所示。其中朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I 以及总黄酮的含量与  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  模型的  $R^2$  分别为 0.046、0.075、0.198、0.320、0.177、0.246, 说明箭叶淫羊藿中的有效成分中朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮分别有 4.6%、7.5%、19.8%、32.0%、17.7%、24.6% 是受色差指标  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  的影响。故针对  $R^2 > 10\%$  具有研究意义的朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮 4 种有效成分含量与色差指标进行回归分析。使用 SPSS 软件对色差值和有效成分含量数据进行回归分析可得如下回归方程:

$$Y_{\text{朝藿定 C 含量}} = 0.036 + 0.001 L^* + 0.003 a^* + 0.001 b^*;$$

$$Y_{\text{淫羊藿苷含量}} = 0.009\ 269 + 0.000\ 236 L^* + 0.000\ 881 a^* + 0.000\ 214 b^*;$$

$$Y_{\text{宝藿苷 I 含量}} = 0.001\ 801\ 332 + 0.000\ 045\ 921 L^* + 0.000\ 171\ 206 a^* + 0.000\ 041\ 566 b^*;$$

$$Y_{\text{总黄酮含量}} = 0.043 + 0.001 L^* + 0.004 a^* + 0.001 b^*。$$

回归分析方程表明通过检测箭叶淫羊藿叶片的色差值可以快速预测其朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮 4 种有效成分含量。

### 4 讨论

“辨色论质”主要根据药材的外观性状, 以色泽作为性状鉴别中最直观的指标, 利用感官来判断药材的真伪优劣, 属于经验鉴别。不能客观测量, 不具有明显说服力。颜色量化可以将肉眼观色的主观的、模糊的颜色进行客观化、数字化表达。色差法作为一种传统颜色量化方法<sup>[18]</sup>, 很大程度上避免了以肉眼观色的主观性<sup>[19]</sup>, 不同色度指标也可敏感捕捉到中药材表观色泽的差异, 本研究通过对箭叶淫羊藿叶片色差与有效成分含量指标测量, 结合现代分析技术和仪器, 探讨中药材质量与颜色特征的相关性, 利用颜色量化和分析技术, 构建一种快速鉴别箭叶淫羊藿叶片质量模型。

相关学者关注到中药颜色与质量的关系, 王晶晶等<sup>[20]</sup>研究得出铁皮石斛甘露糖含量与茎粉末  $L^*$ 、 $b^*$  以及总色差  $E^*$  存在极显著负相关关系 ( $P < 0.01$ ), 说明其茎粉末中甘露糖含量越低则  $L^*$  值越小即偏暗黄越小、 $b^*$  值越小; 宿莹等<sup>[21]</sup>研究得出黄柏药材色差与有效成分小檗碱以及黄柏碱含量密切相关,

颜色偏亮黄色的黄柏有效成分含量较高, 质量相对较好, 通过色差仪对黄柏色差值进行测定可快速预测黄柏中有效成分的含量; 武艳雪等<sup>[22]</sup>研究得出黄芩外观色差与有效成分黄芩苷含量相关; 刘伟等<sup>[23]</sup>研究得出色泽指标  $a^*$  与  $b^*$  与丹参药材中的水溶性成分及脂溶性成分呈显著正相关。可见, 基于“辨色论质”理论将药材外观色泽与内在品质进行关联是评价药材优劣的有效手段之一。

本研究以采收期色泽差异较明显的箭叶淫羊藿叶片作为研究对象, 围绕其色差是否与有效成分相关开展研究, 利用色差空间 CIE 色度空间系统将箭叶淫羊藿叶片色泽性状进行指标量化, 建立一种快速鉴别箭叶淫羊藿质量的模型标准, 通过 K-聚类分析确定了箭叶淫羊藿有效成分含量最高的色差外观为亮黄绿色, 均无或少见黄色斑点。结合“辨色论质”理论分析箭叶淫羊藿色差与有效含量指标的相关性, 确定箭叶淫羊藿叶片中两者的线性关系, 建立有关回归方程曲线。利用颜色量化建立的回归方程可快速预测箭叶淫羊藿中朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I、总黄酮的含量。本实验采集样品批次多, 所建立的箭叶淫羊藿质量模型更具有代表性、准确性, 样品的表观色泽能代表箭叶淫羊藿叶片的表达状态, 建立的质量模型对采样地的箭叶淫羊藿叶片模拟效果优良, 但不同批次箭叶淫羊藿采样地之间距离较近, 比较单一, 仍需要不同产地的箭叶淫羊藿进行补充验证, 丰富数据库, 优化箭叶淫羊藿质量模型, 提高对有效成分含量预测的准确度。本研究建立的“辨色论质”方法可对箭叶淫羊藿样品质量进行快速分类评价, 为箭叶淫羊藿叶片有效成分含量快速预测及“辨色论质”评价体系的构建提供参考依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 340.
- [2] Jin J, Wang H, Hua X Y, *et al.* An outline for the pharmacological effect of icariin in the nervous system [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 842: 20-32.
- [3] Xue L M, Jiang Y P, Han T, *et al.* Comparative proteomic and metabolomic analysis reveal the antiosteoporotic molecular mechanism of icariin from *Epimedium brevicornu* Maxim [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 192: 370-381.
- [4] Yan N, Wen D S, Zhao Y R, *et al.* *Epimedium sagittatum* inhibits TLR4/MD-2 mediated NF- $\kappa$ B signaling pathway

- with anti-inflammatory activity [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2018, 18(1): 303.
- [5] 李巧玲, 韩凤, 曹然, 等. 箭叶淫羊藿不同时期根际微生物群落组成及其与有效成分累积的相关性分析 [J]. *中草药*, 2023, 54(2): 641-651.
- [6] Yang L L, Zhou S W, Hou Y W, *et al*. Blue light induces biosynthesis of flavonoids in *Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim. leaves, a study on a light-demanding medicinal shade herb [J]. *Ind Crops Prod*, 2022, 187: 115512.
- [7] 谢宗万. 中药品种传统经验鉴别“辨状论质”论 [J]. *时珍国药研究*, 1994, 5(3): 19-21.
- [8] 刘倩倩, 王升菊, 任超翔, 等. 中药辨色论质理论与方法的传承创新 [J]. *中草药*, 2021, 52(10): 3121-3132.
- [9] 王皓南, 田滢琦, 刘大会, 等. 中药“辨状论质”的历史、发展与应用 [J]. *中药材*, 2021, 44(3): 513-519.
- [10] 徐曼菲. 中药红花辨色论质方法学研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [11] 马婷婷, 龚慕辛, 王智民, 等. 甘草色泽与有效成分含量的相关性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(19): 3776-3785.
- [12] 宿莹, 李翟, 侯晓琳, 等. 基于色差原理分析龙胆有效成分含量与颜色的相关性 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(13): 151-156.
- [13] 刘战, 侯晓琳, 宿莹, 等. 基于色差原理分析赤芍颜色与 HPLC 指纹图谱信息相关性研究 [J]. *中药材*, 2020, 43(8): 1933-1936.
- [14] Reinhard E, Ashikhmin M, Gooch B, *et al*. Color transfer between images [J]. *IEEE Comput Graph Appl*, 2001, 21(5): 34-41.
- [15] 林华坚, 张梓豪, 孟江, 等. 干姜及其炮制品色差值与活性成分含量的相关性研究 [J]. *中国药房*, 2020, 31(10): 1197-1202.
- [16] 覃春叶, 何佳佳, 陈子愉, 等. 箭叶淫羊藿药材等级质量研究 [J]. *贵州科学*, 2022, 40(2): 39-45.
- [17] 张语凡, 相乐康, 王鑫, 等. 结合传统性状客观化分析何首乌不同炮制方式与炮制程度的色彩色差 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(20): 1-7.
- [18] 孟庆安, 刘恩顺. 实现中药颜色客观化表达的研究思路探讨 [J]. *天津中医药*, 2014, 31(11): 696-699.
- [19] 郭静英, 易海燕, 郑郁清, 等. 基于“辨色论质”的百合制桔梗质量控制研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(1): 72-80.
- [20] 王晶晶, 马晓开, 聂冰倩, 等. 铁皮石斛甘露糖含量与其颜色的相关性研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2023, 41(6): 32-36.
- [21] 宿莹, 侯晓琳, 刘战, 等. 基于色差原理分析黄柏有效成分含量与颜色的相关性 [J]. *中药材*, 2019, 42(8): 1766-1770.
- [22] 武艳雪, 翁丽丽, 姜雨昕, 等. 基于色差原理分析黄芩化学成分含量与色度相关性 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2020, 22(8): 2839-2844.
- [23] 刘伟, 周冰谦, 王晓, 等. 丹参药材粉末色泽与有效成分含量的相关性 [J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(4): 1466-1470.

[责任编辑 时圣明]